



DEUTSCHES  
PATENTAMT

②1 Aktenzeichen: P 35 30 780.3  
②2 Anmeldetag: 28. 8. 85  
④3 Offenlegungstag: 3. 7. 86

**Behördeneigentum**

DE 3530780 A1

- ③0 Unionspriorität: ③2 ③3 ③1  
24.12.84 JP 270939/84 29.03.85 JP 63320/85
- ⑦1 Anmelder:  
Wakamoto Pharmaceutical Co., Ltd., Tokio/Tokyo,  
JP
- ⑦4 Vertreter:  
Vossius, V., Dipl.-Chem. Dr.rer.nat.; Vossius, D.,  
Dipl.-Chem.; Tauchner, P., Dipl.-Chem. Dr.rer.nat.;  
Heunemann, D., Dipl.-Phys. Dr.rer.nat.; Rauh, P.,  
Dipl.-Chem. Dr.rer.nat., Pat.-Anw., 8000 München

- ⑦2 Erfinder:  
Abe, Tooru, Sagamihara, Kanagawa, JP;  
Yanagihara, Yukiyo, Machida, Tokio/Tokyo, JP;  
Shida, Takao, Sagamihara, Kanagawa, JP; Kohno,  
Shigekatsu, Ohtsu, Shiga, JP; Ohata, Katsuya, Uji,  
Kyoto, JP; Ogasawara, Yoshiaki, Odawara,  
Kanagawa, JP; Kageyama, Shinji, Kanagawa, JP;  
Oguma, Tsuru; Tsuruya, Yoshihiro, Hatano,  
Kanagawa, JP; Kuroda, Toshio, Sagamihara,  
Kanagawa, JP; Hashimoto, Terumasa, Kawasaki,  
Kanagawa, JP

⑤4 Verwendung von 5-(3-n-Butyloxalylaminophenyl)-tetrazol

5-(3-n-Butyloxalylaminophenyl)-tetrazol wird aufgrund seiner Wirkung als Inhibitor der SRS-A-Freisetzung als Wirkstoff für ein Asthmolytikum verwendet. Beschrieben ist ferner ein Arzneimittel, das durch Mischen des Tetrazols mit einem spezifischen Dispergiermittel wie Polysorbat-80 zusammen mit einem nicht-wässrigen Lösungsmittel konfektioniert wird und ein hohes Auflösungsvermögen und gute Bioverfügbarkeit aufweist.

DE 3530780 A1

28. AUG. 1985

5 u.Z.: T 924 (DV/kä)  
Case: OP 85 167

WAKAMOTO PHARMACEUTICAL CO., LTD.  
Tokyo, Japan

10 " Verwendung von 5-(3-n-Butyloxalylaminophenyl)-tetrazol "

P a t e n t a n s p r ü c h e

- 15 1. Verwendung von 5-(3-n-Butyloxalylaminophenyl)-tetrazol als Inhibitor der SRS-A-Freisetzung.
2. Pharmazeutische Zusammensetzung zur Behandlung von Asthma, gekennzeichnet durch
- 20 a) einen Gehalt an 5-(3-n-Butyloxalylaminophenyl)-tetrazol in einer zur Hemmung der SRS-A-Freisetzung wirksamen Menge und
- b) mindestens einem Bestandteil aus der Gruppe Polysorbat-80, Polyvinylpyrrolidon, mit Polyoxyäthylen gehärtetes Ricinusöl, Polyäthylenglykol,
- 25 Hydroxymethylcellulose, Hydroxypropylcellulose und Hydroxypropylmethylcellulose.
3. Verfahren zur pharmazeutischen Zubereitung des Asthmamittels nach Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet,
- 30 daß man entweder
- a) 5-(3-n-Butyloxalylaminophenyl)-tetrazol in einer zur Hemmung der SRS-A-Freisetzung wirksamen Menge mit mindestens einem Dispergiermittel aus
- 35 der Gruppe Polysorbat-80, Polyvinylpyrrolidon, mit Polyoxyäthylen gehärtetes Ricinusöl, Polyäthy-

- 1        lenglykol, Hydroxymethylcellulose, Hydroxypropyl-  
cellulose und Hydroxypropylmethylcellulose zusam-  
men mit einem nicht-wäßrigen Lösungsmittel gleich-  
mäßig vermischt und anschließend das nicht-wäßrige  
5        Lösungsmittel aus dem Gemisch entfernt, oder  
b) den Wirkstoff in flüssigem Polyäthylenglykol auf-  
löst und damit ein den Wirkstoff enthaltendes Poly-  
äthylenglykol erhält.

10

15

20

25

30

35

1

- 5 Asthma ist eine Krankheit, die durch paroxymale Dyspnoe und Stridor, verursacht durch eine Stenose der Luftwege, gekennzeichnet ist.

10 Typische Ursachen der Stenose der Luftwege sind eine Konstriktion der glatten Muskulatur der Luftwege, die Bildung von Ödemen in der Mundschleimhaut, vermehrtes Sputum und die Bildung von Mukozelen in den Luftwegen; von diesen Ursachen ist die Konstriktion der glatten Muskulatur der Luftwege die wichtigste.

15

Die Luftwege eines Asthmapatienten neigen allgemein zur Produktion von IgE-Antikörpern gegen viele Antigene einschließlich inhaliertem Allergen. Aus diesem Grunde enthält der Körper von Asthmapatienten eine große Menge von  
20 IgE-Antikörpern. Wenn sie also Antigene, wie z.B. Pollen oder andere Allergene, einatmen, so wird eine Antigen-Antikörper-Reaktion auf der Oberfläche der Mastzellen ausgelöst, die in reichem Maße in der Submukosa der Luftwege vorhanden sind. Histamin und SRS-A (slow reacting substance  
25 of anaphylaxis), deren Freisetzung durch die Antigen-Antikörper-Reaktion ausgelöst wird, verursachen Asthmasymptome, zu denen auch die Konstriktion der glatten Muskulatur gehört (Progress in Medicine, Bd. 3, (1983), S. 655 bis 666).

30 Die durch Histamin verursachte Verkrampfung der glatten Bronchialmuskulatur ist stark und äußerst schmerzhaft, ein ernster Anfall ist aber innerhalb verhältnismäßig kurzer Zeit vorbei (Allergy, Bd. 7 (1958), S. 93 - 104).

35 Im Gegensatz dazu erfolgt die Konstriktion der glatten Bronchialmuskulatur durch SRS-A langsam, hält jedoch

1 lange an, so daß der Asthmapatient unter starken Schmerzen  
leidet. Die Entwicklung eines Wirkstoffes, der wirksam  
die Freisetzung von SRS-A inhibiert, war daher wünschens-  
wert (Progress in Medicine, Bd. 3 (1983), S. 655 bis 666).

5

SRS-A wird aus Mastzellen oder dergleichen durch eine  
Antigen-Antikörper-Reaktion freigesetzt, an der ein IgE-  
Antikörper beteiligt ist. Im Gegensatz zum Histamin, das  
einem präformierten Mediator zuzuordnen ist, wird

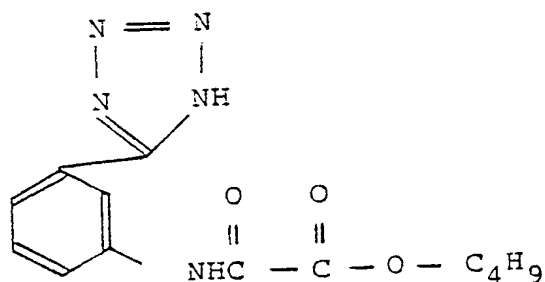
10 SRS-A durch die Stimulie-

rung der Reaktion synthetisiert und gehört zu einem neu  
erzeugten Mediator, der im wesentlichen aus den Leuko-  
trienen  $C_4$ ,  $D_4$ ,  $E_4$  ( $LTC_4$ ,  $LTD_4$ ,  $LTE_4$ ) besteht, die durch  
eine Reihe von Reaktionen gebildet werden einschließlich  
15 der durch 5-Lipoxygenase ausgelösten Reaktion von Arachi-  
donsäure, und deren chemische Strukturen aufgeklärt wur-  
den (Immunology and Pharmacology, Bd. 2, Nr. 2 (1984),  
S. 207 bis 213).

20 In der JP-OS 11 975/1982 ist 5-(3-n-Butyloxalylamino-  
phenyl)-tetrazol (nachstehend mit MTB bezeichnet) als  
eine Verbindung beschrieben, die eine antiallergische Wir-  
kung zeigt. Die Verbindung hat die nachstehende chemische  
Struktur:

25

30



35

Obwohl es danach bekannt war, daß MTB eine antiallergische  
Wirkung zeigt, wobei die Freisetzung von Histamin inhibiert  
wird, war es nicht bekannt, daß MTB eine ausgezeichnete in-  
hibierende Wirkung gegenüber der SRS-A-Freisetzung auf-

- 1 weist (Japanese Journal of Pharmacology, Bd. 32 (1982),  
S. 689 bis 697).

Der Erfindung liegt somit die Aufgabe zugrunde, ein neues  
5 Antiasthmamittel und ein Verfahren zu seiner Herstellung  
zur Verfügung zu stellen.

Die Erfindung betrifft somit den in den Ansprüchen gekenn-  
zeichneten Gegenstand.

10

Bei der Suche nach einem Asthmolytikum bemerkten die Erfin-  
der, daß die Substanz, die die wichtigste Rolle bei der  
Verstärkung der Asthmasymptome spielt, die langsam reagie-  
rende Anaphylaxiesubstanz SRS-A ist, worauf in zahlreichen  
15 Screeningtests eine Verbindung gesucht wurde, die wirksam  
die Freisetzung von SRS-A inhibiert. Dabei wurde als wirk-  
same Substanz MTB gefunden.

Die weiteren Untersuchungen betrafen eine Verbesserung der  
20 pharmazeutischen Zubereitung von MTB als Medikament. Da-  
bei wurde festgestellt, daß das MTB in seiner ursprüngli-  
chen Pulverform sehr schlecht bei der Konfektionierung zu  
handhaben ist, da es praktisch unlöslich in Wasser ist.  
Darüber hinaus wurde festgestellt, daß bei dem auf  
25 herkömmliche Weise konfektionierten Pulver, die  
erhaltenen pharmazeutischen Zubereitungen hinsichtlich  
ihrer Abbau- und Auflösungsigenschaften minderwertig sind,  
was zu einer ungenügenden Bioverfügbarkeit des Wirkstoffs  
führt. Zur Lösung dieser Probleme wurde das erfindungsge-  
30 mäßige Verfahren zur Herstellung eines MTB enthaltenden Arz-  
neimittels entwickelt.

Die Erfindung betrifft somit ein Asthmamittel, das als  
Wirkstoff MTB in einer die SRS-A-Freisetzung hemmenden  
35 Menge enthält, ein Verfahren zur Zubereitung dieses  
Asthmamittels und die Verwendung von

1 MTB als Inhibitor der SRS-A-Freisetzung.

MTB hat eine ausgezeichnete Wirkung als Inhibitor der SRS-A-Freisetzung und der Histaminfreisetzung.

5 Bei Verabfolgung an einen Asthmapatient inhibiert MTB wirksam die Freisetzung der vorstehend genannten zwei Komponenten, die Asthma verursachen und zeigt somit eine ausgezeichnete Wirkung als Asthmolytikum.

10 Die pharmazeutische Zusammensetzung der Erfindung findet im allgemeinen als Präparat zur oralen Gabe, beispielsweise als Tabletten, Granulat, Pulver oder Kapseln Verwendung; sie kann jedoch auch in Form eines Inhalats, von Suppositorien, Cataplasmen, Injektionen oder ähnlichem  
15 verwendet werden.

Das Asthmamittel der Erfindung zeigt ausgezeichnete spasmolytische Wirkung; im allgemeinen liegt eine Dosiseinheit bei etwa 10 bis etwa 500 mg, vorzugsweise bei etwa 50  
20 bis etwa 300 mg für einen erwachsenen Patienten.

Die Herstellung der pharmazeutischen Zusammensetzung der Erfindung erfolgt auf herkömmliche Weise. Um jedoch die Bioverfügbarkeit des Wirkstoffs zu vergrößern erfolgt die  
25 Herstellung vorzugsweise nach einem neuen Verfahren, das dadurch gekennzeichnet ist, daß man a) MTB und mindestens eine Komponente, ausgewählt aus Polysorbat-80, Polyvinylpyrrolidon (nachstehend als PVP bezeichnet), mit Polyoxyäthylen gehärtetes Ricinusöl, Polyäthylenglykol (nachstehend mit PEG bezeichnet), Hydroxymethylcellulose, Hydroxypropylcellulose und Hydroxypropylmethylcellulose (die aus-  
30 gewählten Komponenten werden nachstehend als das spezifische Dispergiermittel bezeichnet) zusammen mit einem nicht-wäßrigen Lösungsmittel gleichmäßig vermischt und anschließend das nicht-wäßrige Lösungsmittel aus dem Gemisch  
35 entfernt, oder b) das MTB in flüssigem PEG auflöst und da-

- 1 mit ein den Wirkstoff enthaltendes flüssiges PEG erhält.  
Nötigenfalls kann die Zubereitung mit einem pharmazeutisch  
verträglichen Träger verdünnt werden. In dem Verfahren der  
Erfindung kann jedes inerte Lösungsmittel verwendet werden,  
5 das sowohl MTB als auch das ~~spezifische~~ Dispergiermittel  
gleichzeitig löst oder dispergiert und das leicht wieder  
abgezogen werden kann. Beispiele für geeignete Lösungs-  
mittel sind Methanol, Äthanol, Isopropanol, Aceton und Di-  
chlormethan. Sie können allein oder in Kombination verwen-  
10 det werden.

Das spezifische Dispergiermittel ist relativ hochmolekular  
und kann sowohl in Wasser als auch in einem nicht-wäßrigen  
Lösungsmittel gelöst oder dispergiert werden. Obwohl die  
15 Menge des verwendeten spezifischen Dispergiermittels in  
Abhängigkeit von dessen Art außerordentlich schwankt,  
liegt sie im allgemeinen im Bereich von 0,01 bis 10  
Gewichtsteilen pro Gewichtsteil MTB.

- 20 PEG mit einem mittleren Molekulargewicht von etwa 200 bis  
etwa 6000 wird bevorzugt verwendet.

Jeder inerte Trägerstoff ist geeignet, soweit er pharma-  
zeutisch verträglich ist. Beispiele für inerte Trägerstof-  
25 fe sind kristalline Cellulose, Maisstärke, Mannit, leichtes  
Kieselsäureanhydrid und Kaolin.

Gemäß dem Verfahren der Erfindung wird der Wirkstoff MTB  
in einem nicht-wäßrigen Lösungsmittel zusammen mit dem  
30 spezifischen Dispergiermittel gelöst bzw. dispergiert,  
wonach das Lösungsmittel abgezogen wird. Es hinterbleibt  
eine feste Lösung oder eine Mitfällung, die das pharma-  
zeutische Präparat darstellt. Bei Verwendung von flüssigem  
PEC kann auch ein pharmazeutisches Präparat durch Auflösen  
35 von MTB in dem PEG erhalten werden. Aufgrund seines aus-  
gezeichneten Dispersions- und Auflösungsvermögens weist



1 die gemäß dem erfindungsgemäßen Verfahren hergestellte  
pharmazeutische Zusammensetzung eine hohe Bioverfügbar-  
keit auf.

5 Messungen mit einem Differentialthermokalorimeter  
(DSC 30-Typ hergestellt von Shimadzu Corporation, Japan)  
zeigen, daß MTB einen Absorptionspeak aufweist, der eine  
kristalline Struktur anzeigt, wogegen das durch Vermischen  
von MTB mit dem spezifischen Dispersionsmittel zusammen  
10 mit einem nicht-wäßrigen Lösungsmittel erhaltene Produkt  
keinen derartigen Peak aufweist. Diese Beobachtung bestä-  
tigt, daß die Behandlung mit dem nicht-wäßrigen Lösungsmit-  
tel in dem erfindungsgemäßen Verfahren nicht nur den Grad  
des Vermischens erhöht, sondern auch eine Änderung in der  
15 Kristallstruktur des MTB herbeiführt.

Gemäß dem erfindungsgemäßen Verfahren kann auch wahlweise  
zunächst eine Vormischung mit einer hohen Konzentration  
MTB ohne einen Trägerstoff oder mit einer begrenzten Menge  
20 eines Trägerstoffes hergestellt werden und die erhaltene  
Vormischung anschließend mit einem Trägerstoff nach her-  
kömmlichen Verfahren verdünnt werden, um die pharmazeuti-  
sche Zubereitung in der gewünschten Form zu erhalten.  
Darüber hinaus kann auch eine größere Menge des spezifi-  
25 schen Dispergiermittels verwendet werden, das auch als Trä-  
gerstoff dient.

Zur Herstellung eines körnigen oder pulverförmigen Produk-  
tes wird im allgemeinen <sup>in</sup> einem nassen Herstellungsverfahren  
30 MTB gleichzeitig mit einem üblichen Träger, Bindemittel,  
Süßstoff und anderen Hilfsmitteln zusammen mit einem nicht  
wäßrigen Lösungsmittel vermischt. Erforderlichenfalls wird  
das körnige oder pulverförmige Produkt in eine Kapsel ge-  
füllt, oder tablettiert.

35

- 1 Selbst wenn MTB und das spezifische Dispergiermittel nicht vollständig in einem nicht-wäßrigen Lösungsmittel gelöst sind, zeigt das MTB-Präparat noch ein unerwartet hohes Auflösungsvermögen.

5

Die Beispiele erläutern die Erfindung.

#### B e i s p i e l 1

- 10 Ein Gemisch von 50 g MTB, 44 g kristalliner Cellulose, 10 g Maisstärke und 10 g Hydroxypropylcellulose mit einem niedrigen Substitutionsgrad wird mit 6 g PVP gelöst in 30 ml Isopropanol versetzt und das erhaltene Gemisch gleichmäßig vermischt, granuliert, bei 40°C 5 Stunden lang  
15 getrocknet und gesiebt. Es wird ein feinkörniges Produkt erhalten.

#### B e i s p i e l 2

- 20 Ein feinkörniges Produkt wird auf die in Beispiel 1 beschriebene Weise erhalten, wobei anstelle von 6 g PVP 4 g PVP und 2 g Polysorbat-80 verwendet werden. Das erhaltene feinkörnige Produkt wird dann in eine Hartgelatine kapsel gefüllt.

#### 25 B e i s p i e l 3

- 100 g MTB werden in 500 ml Aceton gelöst und mit 10 g Polysorbat-80 versetzt, wobei ein Gemisch erhalten wird. Nach Verrühren des Gemisches wird dieses mit 400 g kristal-  
30 liner Cellulose, 50 g Hydroxypropylcellulose mit einem niedrigen Substitutionsgrad und 440 g Maisstärke versetzt, anschließend gleichmäßig vermischt, bei 50°C 5 Stunden getrocknet und gesiebt. Es wird ein pulverförmiges Produkt erhalten.

35

1

## B e i s p i e l 4

Ein Gemisch von 100 g MTB, 420 g kristalliner Cellulose,  
400 g Kornstärke und 30 g Hydroxypropylcellulose mit einem  
5 niedrigen Substitutionsgrad wird mit 50 g PVP, gelöst in  
550 ml Isopropanol, versetzt. Das erhaltene Gemisch wird  
verknetet und durch ein Sieb der lichten Maschenweite von  
0,7 mm extrudiert, wobei ein Granulat erhalten wird, das  
anschließend 5 Stunden bei 50°C getrocknet und gesiebt  
10 wird. Es wird ein Granulat erhalten, das 50 mg MTB pro  
500 mg Produkt enthält.

## B e i s p i e l 5

15 10 g MTB und 20 g Hydroxypropylmethylcellulose werden in  
200 ml eines Gemisches von Dichloräthan und Äthanol (1/1)  
gelöst. Das erhaltene Gemisch wird mit 20 g leichtem  
Kieselsäureanhydrid versetzt. Das Gemisch wird gleich-  
mäßig vermischt und durch Abdestillieren des Lösungsmit-  
20 tels unter vermindertem Druck getrocknet, wobei ein Pulver  
erhalten wird. Dieses wird durch ein 40-mesh Sieb (lichte  
Maschenweite ca. 0.37 mm) gegeben und gleichmäßig mit 50 g  
Mannit vermischt, wobei ein Pulver erhalten wird.

25

## B e i s p i e l 6

100 g MTB werden in 300 ml eines Gemisches von Dichlor-  
äthan und Äthanol (1/1) gelöst und mit 3 g Polysorbat-80  
versetzt. Nach dem Auflösen des Polysorbats werden 167 g  
30 kristalline Cellulose zugegeben und das Ganze gleichmäßig  
vermischt. Anschließend wird das erhaltene Gemisch 4 Stun-  
den bei 50°C getrocknet, wobei ein Pulver erhalten wird,  
das dann gleichmäßig mit 4 g Magnesiumstearat vermischt  
wird. Das vermischte Pulver wird in Kapseln der Nr. 4 in  
35 einer Menge von 137 mg Pulver pro Kapsel gefüllt. Es wird  
eine Hartgelatine kapsel erhalten, die 50 mg MTB pro  
Kapsel enthält.

1

## B e i s p i e l 7

100 g MTB werden in 400 g PEG mit einem mittleren Molekulargewicht von 400 gelöst, wobei eine Lösung erhalten wird, die mit 200 g leichtem Kieselsäureanhydrid und 300 g Calciumcarboxymethylcellulose vermischt wird. Das erhaltene Pulver wird durch ein 42-mesh Sieb (lichte Maschenweite 0,351 nm) gegeben. Es wird ein Pulver erhalten, das 50 mg MTB pro 500 mg Produkt enthält.

10

## B e i s p i e l 8

Ein Gemisch von 100 g MTB, 80 g kristalliner Cellulose, 20 g Kornstärke und 16 g Hydroxypropylcellulose mit einem niedrigen Substitutionsgrad wird mit 16 g PVP und 4 g mit Polyoxyäthylen gehärtetem Ricinusöl, gelöst in 120 ml Äthanol, versetzt. Das erhaltene Gemisch wird gleichmäßig verknetet, granuliert, 4 Stunden bei 50°C getrocknet und durch ein Sieb gegeben. Zu dem erhaltenen Granulat werden 4 g Talcum gegeben, das Gemisch wird gleichmäßig vermischt und in Kapseln der Nr. 4 in einer Menge von 120 mg pro Kapsel abgefüllt. Es werden Hartgelatine kapseln erhalten, die 50 mg MTB pro Kapsel enthalten.

25

## B e i s p i e l 9

100 g MTB und 80 g PEG mit einem mittleren Molekulargewicht von 6000 werden in 500 ml eines Gemisches von Dichlormethan und Äthanol (1/1) gelöst. Die erhaltene Lösung wird mit 20 g leichtem Kieselsäureanhydrid versetzt, gleichmäßig vermischt, 4 Stunden bei 50°C getrocknet und pulverisiert. Das erhaltene Pulver wird mit 88 g kristalliner Cellulose, 10 g Carboxymethylcellulose und 2 g Magnesiumstearat versetzt, und das erhaltene Gemisch auf herkömmliche Weise tablettiert. Die erhaltenen Tabletten enthalten 50 mg MTB pro Tablette.

35

1                                      B e i s p i e l      10

Ein Gemisch von 100 g MTB, 80 g kristalliner Cellulose,  
36 g Kornstärke und 10 g Hydroxypropylcellulose mit einem  
5 niederen Substitutionsgrad wird mit 10 g PVP und 2 g  
Polysorbat-80, gelöst in 120 ml Äthanol, versetzt und an-  
schließend gleichmäßig verknetet. Das verknetete Gemisch  
wird durch ein Sieb der lichten Maschenweite 0,7 mm ex-  
trudiert und das erhaltene Granulat 5 Stunden bei 50°C ge-  
10 trocknet und gesiebt. Nach Zugabe von 2 g Magnesiumstearat  
wird das Granulat auf herkömmliche Weise tablettiert. Es  
werden Tabletten mit einem Durchmesser von 7 mm und einem  
Gewicht von 120 mg erhalten.

15                                      B e i s p i e l      11

2 g MTB werden in 10 g Aceton gelöst, mit 0,2 g Polysor-  
bat-80 versetzt und anschließend geschüttelt und vermischt.  
Die erhaltene Lösung wird mit 511,8 g Kaolin versetzt,  
20 gleichmäßig vermischt und getrocknet, wobei ein getrockne-  
tes Pulver erhalten wird. Hiervon getrennt werden 440 g  
Glycerin auf 100°C erhitzt, um darin enthaltenes Wasser zu  
entfernen und anschließend mit 45 g Borsäure versetzt. Zu  
der erhaltenen Glycerinlösung wird das vorstehend be-  
25 schriebene trockene Pulver gegeben. Nach dem Abkühlen wird  
das Gemisch mit 0,5 g Thymol, gelöst in 0,5 g Pfefferminz-  
öl, versetzt und das ganze Gemisch gründlich vermischt, wo-  
bei ein Cataplasma erhalten wird.

30  
Das erfindungsgemäße Arzneimittel ist ein Asthmolytikum, das  
die Freisetzung von Histamin und von SRS-A sehr wirkungs-  
voll inhibiert und eine Stenosis der Luftwege (Abnahme  
des Atemvolumens) während eines Asthmaanfalls sehr wirk-  
35 sam verhindert.

- 1 Die nachstehenden Versuche erläutern die Wirkung der erfindungsgemäßen pharmazeutischen Zubereitungen.

Versuch 1

- 5 Hemmende Wirkung von MTB auf die Freisetzung von Histamin und SRS-A in Lungenabschnitten von Meerschweinchen

Männliche Hartley-Meerschweinchen werden durch intravenöse Gabe von 0,5 ml pro Kopf von anti-BSA Meerschweinchen-Blutserum passiv sensibilisiert.

2 Tage später werden nach dem Ausbluten und Töten der Meerschweinchen die Lungen entnommen und in Scheiben geschnitten, die mit gegebenen Konzentrationen des zu untersuchenden Wirkstoffs behandelt werden. Nach 5minütiger Behandlung wird die durch die Wirkung des Antigens freigesetzte Menge von Histamin und SRS-A gemessen und das Freisetzung-Hemmungsverhältnis in Prozent bezogen auf die freigesetzte Menge der Kontrollgruppe, in der keine Behandlung mit dem Wirkstoff durchgeführt wurde, berechnet.

Freisetzung-Hemmungs-Verhältnis (%)

$$= \frac{R_0 - R}{R_0} \times 100 (\%)$$

- 25  $R_0$  : Freigesetzte Menge der Kontrollgruppe  
 $R$  : Freigesetzte Menge der mit dem Wirkstoff behandelten Gruppe

Die eingesetzten Wirkstoffe sind der Wirkstoff der Erfindung MTB und, als Vergleichsverbindungen, das Dinatriumsalz der Cromoglicinsäure (nachstehend als DSCG benannt) und Tranilast (nachstehend als N-5' bezeichnet). Der Versuch wurde in einem Konzentrationsbereich von  $10^{-8}$  bis  $10^{-4}$  g/ml durchgeführt. Das Histamin wurde durch die Fluoreszenzmethode (siehe Journal of Allergy, Bd. 46 (1970), Seiten 12 - 20) und das SRS-A durch die Magnus-

- 1 Methode (siehe "Yakubutsugaku Jikken" (Experiments in pharmacology), veröffentlicht von Nanzando, Japan) bestimmt.

- 5 Die Ergebnisse sind in Tabelle I zusammengefaßt. Jeder der in der Tabelle wiedergegebenen Werte stellt den Durchschnittswert von drei Messungen dar.

Tabelle I

| Konzentration<br>des Wirkstoffs<br><br>(g/ml) | Freisetzung-Hemmungs-Verhältnis<br>(%) |      |      |       |      |      |
|-----------------------------------------------|----------------------------------------|------|------|-------|------|------|
|                                               | Histamin                               |      |      | SRS-A |      |      |
|                                               | MTB                                    | DSCG | N-5' | MTB   | DSCG | N-5' |
| 10 <sup>-4</sup>                              | 37                                     | 2    | 16   | 64    | 13   | 54   |
| 10 <sup>-5</sup>                              | 30                                     | 0    | 5    | 66    | 9    | 11   |
| 10 <sup>-6</sup>                              | 14                                     |      |      | 49    |      |      |
| 10 <sup>-7</sup>                              | 6                                      |      |      | 28    |      |      |
| 10 <sup>-8</sup>                              | 8                                      |      |      | 2     |      |      |
| Kontrolle                                     | 0                                      | 0    | 0    | 0     | 0    | 0    |

- Wie aus den in Tabelle I zusammengefaßten Ergebnissen hervorgeht, zeigt der erfindungsgemäße Wirkstoff MTB ein bemerkenswert hohes Histamin- und SRS-A-Freisetzung-Hemmungs-Verhältnis verglichen mit den für die DSCG und N-5' berechneten Werten. Die Werte für das Freisetzung-Hemmungs-Verhältnis bei SRS-A liegen für MTB mit 49 bis 66 % im Konzentrationsbereich von 10<sup>-6</sup> bis 10<sup>-4</sup> g/ml besonders hoch.

### Versuch 2

Hemmende Wirkung von MTB auf die Freisetzung von Histamin und SRS-A in Lungenabschnitten von Rhesusaffen

- 35 Anschließend wird auf die gleiche Weise wie in Versuch 1 beschrieben die Histamin- und SRS-A-Freisetzung-Hemmungs-

- 1 Wirkung des erfindungsgemäßen Wirkstoffs MTB mit der des bekannten Wirkstoffs DSCG verglichen.

Die Ergebnisse sind in der Tabelle II zusammengefaßt. Jeder  
5 der in der Tabelle wiedergegebenen Werte stellt den Durchschnittswert von drei Messungen dar.

Tabelle II

| Konzentration des<br>Wirkstoffs<br>(g/ml) | Freisetzung-Hemmungs-Verhältnis<br>(%) |      |       |      |
|-------------------------------------------|----------------------------------------|------|-------|------|
|                                           | Histamin                               |      | SRS-A |      |
|                                           | MTB                                    | DSCG | MTB   | DSCG |
| 10 <sup>-4</sup>                          | 27                                     | 0    | 16    | 2    |
| 10 <sup>-5</sup>                          | 2                                      | 0    | 17    | 0    |
| 10 <sup>-6</sup>                          | 12                                     |      | 18    |      |
| 10 <sup>-7</sup>                          | 0                                      |      | 0     |      |
| Kontrolle                                 | 0                                      | 0    | 0     | 0    |

Versuch 3

Hemmende Wirkung von MTB auf die Freisetzung von Histamin  
und SRS-A in Lungenabschnitten vom Menschen

Ein makrographisch normaler Abschnitt einer Probe aus einer menschlichen Lunge, excidiert in einer Lungenkrebsoperation, wird mit menschlichem Atopieblutserum auf die gleiche Weise wie in Versuch 2 beschrieben, sensibilisiert. Anschließend wird die Histamin- und SRS-A-Freisetzung-Hemmungswirkung der Wirkstoffe auf die gleiche Weise wie in Versuch 1 gemessen und berechnet.

Die Ergebnisse sind in der Tabelle III zusammengefaßt. Jeder der in der Tabelle wiedergegebenen Werte stellt den Durchschnittswert von drei Messungen dar.



Tabelle III

| Konzentration<br>des Wirkstoffs<br>(g/ml) | Freisetzung-Hemmungs-Verhältnis (%) |      |      |       |      |      |
|-------------------------------------------|-------------------------------------|------|------|-------|------|------|
|                                           | Histamin                            |      |      | SRS-A |      |      |
|                                           | MTB                                 | DSCG | N-5' | MTB   | DSCG | N-5' |
| 10 <sup>-4</sup>                          | 27                                  | 18   | 31   | 47    | 39   | 37   |
| 10 <sup>-5</sup>                          | 23                                  | 13   | 16   | 47    | 41   | 32   |
| 10 <sup>-6</sup>                          | 23                                  |      |      | 43    |      |      |
| 10 <sup>-7</sup>                          | 8                                   |      | -    | 31    |      |      |
| 10 <sup>-8</sup>                          | 0                                   |      |      | 2     |      |      |
| Kontrolle                                 | 0                                   | 0    |      | 0     | 0    | 0    |

Versuch 4Verhinderung von experimentell erzeugtem Asthma

Meerschweinchen werden mit einem anti-DNP-AS-Blutserum von Meerschweinchen passiv sensibilisiert, in eine luftdichte Kiste verbracht und zum Inhalieren von 2,5 mg/ml DNP-BSA innerhalb von 15 Sekunden ohne Narkose und ohne Einschränkung der Bewegung veranlaßt; hierbei wird experimentelles Asthma erzeugt. Die Fluktuation des Thorax der Meerschweinchen wird mit einem Recorder über einen Differentialdruckumwandler aufgezeichnet, um das Tidalvolumen pro Zeiteinheit zu messen, wobei die Abnahme des Tidalvolumens bezogen auf den Wert erhalten wurde, der vor der Erzeugung des Asthmas gemessen wurde.

Die untersuchten Wirkstoffe waren MTB und N-5', die jeweils oral in einer Menge von 250 mg/kg 60 Minuten vor der Erzeugung des Asthmas verabreicht wurden.

Die Ergebnisse sind in Tabelle IV zusammengefaßt. Jeder der in der Tabelle wiedergegebenen Werte stellt den Durchschnittswert von 7 Messungen dar.

1

Tabelle IV

| Zeit<br>(Min.) | Tidal-Volumen-Abnahme (%) |     |      |
|----------------|---------------------------|-----|------|
|                | Kontrolle                 | MTB | N-5' |
| 0              | 0                         | 0   | 0    |
| 1              | 34                        | 17  | 26   |
| 2              | 48                        | 17  | 24   |
| 3              | 47                        | 21  | 24   |
| 4              | 46                        | 23  | 26   |
| 5              | 42                        | 21  | 23   |
| 6              | 41                        | 22  | 25   |
| 8              | 39                        | 21  | 28   |
| 10             | 34                        | 21  | 24   |
| 15             | 30                        | 14  | 27   |
| 20             | 25                        | 19  | 22   |
| 30             | 29                        | 15  | 19   |

20 Wie aus den Ergebnissen aus Tabelle IV hervorgeht, zeigt die mit MTB behandelte Gruppe eine bemerkenswert niedrige Abnahme des Tidalvolumens verglichen mit der Kontrollgruppe, der kein Wirkstoff verabreicht wurde und der Gruppe, der der Wirkstoff N-5' verabfolgt worden war. Insbesondere zeigt der Wirkstoff der Erfindung eine ausgezeichnete Wirkung durch Verhinderung eines raschen Absinkens des Tidalvolumens unmittelbar nach der Erzeugung des Asthmas.

30 In der nachstehenden Tabelle V sind die LD<sub>50</sub>-Werte für MTB gemessen an Warmblütern wiedergegeben.

35

1

Tabelle V

| Akute Toxizität LD <sub>50</sub> (mg/kg) |                    |      |      |       |       |
|------------------------------------------|--------------------|------|------|-------|-------|
| Tier                                     | Verabreichungsform | i.v. | i.p. | s.c.  | p.o.  |
|                                          |                    |      |      |       |       |
| Maus                                     | männlich           | 1130 | 1120 | >4000 | >4000 |
|                                          | weiblich           | 1225 | 1160 | >4000 | >4000 |
| Ratte                                    | männlich           | 1110 | 1430 | >4000 | >4000 |
|                                          | weiblich           | 1160 | 1430 | >4000 | >4000 |
| Hund                                     | männlich           | -    | -    | -     | >4000 |
|                                          | weiblich           | -    | -    | -     | >4000 |

15

Der Test wurde mit folgenden Tieren durchgeführt:

Maus : DDY, 20 bis 23 g Gewicht, 20 Mäuse pro Gruppe

Ratte: Wistar, 110 bis 130 g Gewicht, 10 Ratten pro Gruppe

Hund : Beagle, 8 kg Gewicht, 3 Hunde pro Gruppe.

20

Die folgenden Versuche zeigen, daß der gemäß dem erfindungsgemäßen Verfahren konfektionierte Wirkstoff MTB sich durch eine ausgezeichnete Auflösungsgeschwindigkeit und Bioverfügbarkeit (Konzentration im Blut) auszeichnet.

25

#### Versuch 5

#### Auflösungstest

500 ml künstlicher Magensaft (Japanese Pharmacopoeia, die erste Flüssigkeit) werden als Eluat verwendet. Der künstliche Magensaft wird in einen Behälter verbracht, bei 37 ± 0,5°C gehalten und mit dem Testpräparat versetzt, das 50 mg MTB enthält. Die Mischung wird bei 100 RpM gerührt. In Zeitabschnitten von festgesetzten Minuten wird jeweils eine Probe entnommen, um die Menge des im Magensaft gelösten MTB durch Spektrophotometrie zu bestimmen.

35

- 1 Die erhaltenen Werte sind in der Tabelle VI zusammengefaßt.

Gruppe A der Erfindung in der Hart-Gelatinekapsel entspricht Beispiel 6.

- 5 Gruppe B der Erfindung als Tablette entspricht Beispiel 10. Vergleichsgruppe A in der Hart-Gelatinekapsel entspricht einem nach herkömmlicher Methode hergestellten Präparat. Vergleichsprobe B als Tablette entspricht einem nach herkömmlicher Weise hergestellten Präparat.

10

Tabelle VI

| Auflösungsge-<br>schwindigkeit<br>(%)<br><br>Zeit<br>(Min.) | Hart-Gelatinekapsel   |                   | Tablette              |                   |
|-------------------------------------------------------------|-----------------------|-------------------|-----------------------|-------------------|
|                                                             | Probe A der Erfindung | Vergleichsprobe A | Probe B der Erfindung | Vergleichsprobe B |
| 5                                                           | 77.6                  | 3.6               | 51.2                  | 2.1               |
| 10                                                          | 87.8                  | 6.2               | 60.0                  | 3.7               |
| 20                                                          | 98.0                  | 12.3              | 84.3                  | 6.8               |
| 30                                                          | 99.8                  | 17.6              | 93.6                  | 9.5               |
| 40                                                          | 101.4                 | 22.5              | 97.8                  | 10.9              |
| 60                                                          | 98.7                  | 31.7              | 98.4                  | 12.0              |

25

Wie aus der Tabelle VI hervorgeht, zeigen die Präparate der Erfindung eine hohe Auflösungsgeschwindigkeit.

- Die in den vorstehenden Tests verwendeten Vergleichspräparate wurden wie folgt hergestellt.

30

Vergleichsprobe A

- 50 g kristallines MTB in Pulverform werden gleichmäßig mit  
35 68 g Lactose und 2 g Magnesiumstearat vermischt. 120 mg des erhaltenen Gemisches werden in eine Kapsel gefüllt. Es

- 1 wird eine Hart-Gelatinekapsel mit 50 mg MTB erhalten.

#### Vergleichsprobe B

- 5 Ein Gemisch von 50 g kristallinem MTB in Pulverform, 40 g Lactose, 15 g Maisstärke, 10 g kristalliner Cellulose in Pulverform und 3 g Stärke als Paste wird mit etwa 40 ml Wasser verknetet und durch ein Sieb mit einem Durchmesser von 7 mm extrudiert. Das erhaltene Granulat wird getrock-
- 10 net, gesiebt und mit 2 g Magnesiumstearat versetzt. Die erhaltene Mischung wird tablettiert. Es werden Tabletten mit 50 mg MTB pro Tablette erhalten.

#### Versuch 6

- 15 Bestimmung der MTB-Konzentration im Blut

Fünf männlichen Beagle-Hunden mit einem Gewicht von jeweils etwa 10 kg wird nach 24-stündigem Fasten ein Testpräparat oral verabreicht. In bestimmten Zeitintervallen wird den

20 Hunden Blut entnommen und die MTB-Konzentration im Blut durch Flüssigchromatographie bestimmt.

Die Testpräparate waren die gleichen wie in Versuch 5.

- 25 Die Ergebnisse sind in Tabelle VII zusammengefaßt.

30

35

1

Tabelle VII

| Zeit<br>(Min.) | Konzentration<br>im Blut<br>( $\mu\text{g/ml}$ ) | Hartkapsel               |                        | Tablette                 |                        |
|----------------|--------------------------------------------------|--------------------------|------------------------|--------------------------|------------------------|
|                |                                                  | Probe A der<br>Erfindung | Vergleichs-<br>probe A | Probe B der<br>Erfindung | Vergleichs-<br>probe B |
|                | 15                                               | 0.23                     | 0.04                   | 0.14                     | ND                     |
|                | 30                                               | 0.36                     | 0.08                   | 0.28                     | 0.03                   |
|                | 45                                               | 0.44                     | 0.12                   | 0.39                     | 0.05                   |
|                | 60                                               | 0.57                     | 0.14                   | 0.56                     | 0.07                   |
|                | 90                                               | 0.62                     | 0.30                   | 0.64                     | 0.13                   |
|                | 120                                              | 0.47                     | 0.18                   | 0.56                     | 0.09                   |
|                | 180                                              | 0.23                     | 0.08                   | 0.31                     | 0.04                   |
|                | 240                                              | 0.16                     | 0.05                   | 0.22                     | 0.03                   |
|                | 360                                              | 0.09                     | 0.03                   | 0.10                     | ND                     |

Anm.: Die in der Tabelle wiedergegebenen Werte entsprechen  
20 dem an fünf Hunden gemessenen Durchschnittswert.  
ND bedeutet, daß MTB nicht nachgewiesen wurde.

Die vorstehenden Versuche zeigen, daß das Asthmamittel der  
Erfindung eine ausgezeichnete Wirkung als Inhibitor der  
25 SRS-A-Freisetzung aufweist.

30

35